

A B típusú natriureticus peptid szerepének vizsgálata súlyos praeeclampsia kialakulásában

Doktori tézisek

Dr. Szabó Gábor

Semmelweis Egyetem
Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola



Témavezető: Dr. Nagy Bálint Ph.D., tudományos főmunkatárs

Hivatalos bírálók: Dr. Kiscsitári István Ph.D., osztályvezető főorvos,
Dr. Szabó Viktória Ph.D.

Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Paulin Ferenc az MTA doktora, egyetemi tanár
Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Hernádi László Ph.D., osztályvezető főorvos,
Dr. Patócs Attila Ph.D., egyetemi docens,

Budapest
2013

I. Bevezetés

A natriureticus peptidcsaládot több szerkezetileg hasonló molekula alkotja. Ezek közé tartozik a B (brain) típusú natriureticus peptid (BNP). A BNP a szervezet folyadéktereinek homeosztázisának fenntartásában, illetve a vérnyomás szabályozásban is jelentős szerepet játszik. Hatására az erek simaizomzata ellazul, ezáltal tónusuk csökken. A renin-angiotenzin-aldoszteron rendszer gátlása, a simaizom és szívizomsejtek osztódása elleni működés, valamint centrálisan a szomjúságérzet és sóétvágy csökkentése, a presszor központ gátlása és az ACTH illetve a vazopresszin termelésének blokkolása egyaránt a hormon élettani hatásai közé tartoznak. Az érrendszerrel kapcsolatos tulajdonságokkal párhuzamosan a hipovolémiát fokozza a BNP vesében kifejtődő diureticus és natriureticus hatása.

A 32 aminosavból álló molekulát főleg a balkamra szívizomsejtjei termelik nagy molekulásúlyú polipeptid prekursorokból, intracelluláris átalakulások révén. A BNP termelésének és ürítésének hatásos kiváltó stimulusa a szívüregek feszülése. A hormon szekréciójának kontrollja transzkripciós szinten zajlik és a génexpresszió fokozódásához hosszan tartó stimulációt igényel. A BNP génje -natriureticus peptid precursor B gén (NPPB)- az 1. kromoszómán helyezkedik el és három exont tartalmaz. A natriureticus peptid precursor B gén 5' széli régiójában, a promoter régióban számos transzkripciós faktor számára alkalmas kötődési helyet, illetve pajzsmirigyhormonokra-, érfeszülésre reaktív, valamint aktivált T sejt nukleáris faktorkötő területeket írtak le. Az NPPB génben számos variánst, „single nucleotid” polimorfizmust írtak le, melyekben az emelkedett natriureticus peptid szint alacsonyabb szisztolés és diasztolés vérnyomásértékekkel társult. A natriureticus peptid precursor B gén 5' széli régiójában a TTTC nukleotid szekvencia tandem ismétlődését írták le korábban. Ennek a mikroszatellitának a polimorfizmusa összefüggésben áll nők körében az esszenciális magas vérnyomással.

A praeclampsia napjainkban is a terhesség alatt kialakuló egyik legsúlyosabb kórkép, melynek előfordulási aránya 5-7%. A praeclampsia, mint többszervi betegség, a placentációra adott kóros vaszkuláris reakció következtében létrejövő számos anyai és magzati tünetként jelentkezik. A szisztémás érellenállás növekedése, a véralvadási rendszer aktivációja, a trombocita aggregáció fokozódása és az endotél sejtek működési zavara részei a kórképnek. Az utóbbi évtizedek során a praeclampsia incidenciája nem csökkent, a pathomechanizmus nem teljesen világos a témában indult számos vizsgálat és kutatás ellenére. A számos kórélettani folyamat részleteinek megértése tudományos kihívást jelent. A kórkép megjelenésének ideje alapján megkülönböztethető a 34. terhességi hét betöltése előtti „korai kezdetű” (early onset) és az ezután kialakuló „késői kezdetű” (late onset) praeclampsia. A két kórkép szövődményprofilja eltérést mutat. A tünetek alapján a betegség súlyossága alapján is megkülönböztetünk enyhe-középsúlyos és súlyos formát. A magzatokat leggyakrabban veszélyeztető szövődmények a súlyos praeclampsziában 60%-os arányt meghaladó koraszülés és a 15% feletti méhen belüli retardáció, melynek hátterében az uteroplacentáris keringés beszűkülése, a méhen belüli hipoxiát, krónikus magzati distresszt és végzetes esetben intrauterin magzati elhalást okozó nutritív és oxidatív zavar áll.

Az NPPB gén promoter régiójában található mikroszatellita polimorfizmusnak a praeclampsziában betöltött szerepét, illetve a génpolimorfizmusnak és a BNP plazmaszintjének a kapcsolatát tudomásunk szerint előttünk más még nem vizsgálta

II. Célkitűzések

1. Vizsgálataink célja volt a natriureticus peptid prekursor B gén 5' régiójában található TTTC tandem polimorfizmus meghatározására alkalmazható új módszer - fluoreszcens PCR és DNS fragmens analízis - kifejlesztése.

2. Módszerünkkel a natriureticus peptid prekursor B gén 5' régiójában található TTTC tandem polimorfizmus eloszlását terveztük megállapítani egészséges és súlyos praeclampsias terhesek között.

3. A B típusú natriureticus peptid plazmaszintjének meghatározására használt -ág mellett végezhető, szendvics fluoreszcens immunoassay elvű - módszer, szülészeti klinikai gyakorlatba való alkalmazhatóságát vizsgáltam.

A következő kérdésekre kerestem választ:

4. Magasabb-e a B típusú natriureticus peptid plazma koncentrációja súlyos praeclampsias terhesek esetében az egészségesekhez képest?

5. A natriureticus peptid prekursor B gén 5' régiójában található TTTC tandem polimorfizmus és a B típusú natriureticus peptid plazmaszintjei között megfigyelhetők-e összefüggések?

6. Korai és késői kezdetű súlyos praeclampsias terhesek körében különbözik-e a natriureticus peptid prekursor B gén 5' régiójában található TTTC tandem polimorfizmus eloszlása?

7. Van-e különbség a B típusú natriureticus peptid plazmaszintjeiben korai és késői kezdetű súlyos praeclampsias terhesek körében?

8. A natriureticus peptid prekursor B gén 5' régiójában található TTTC tandem polimorfizmus eloszlása eltér-e az intrauterin magzati retardációval szövődött súlyos praeclampsias terheseknél az eutróf magzatok szüleihez képest?

9. Magasabb-e a B típusú natriureticus peptid plazmaszintje az intrauterin magzati retardációval szövődött súlyos praeclampsias terhesek körében?

10. Kimutatható-e összefüggés praeclampsias betegek esetében a B típusú natriureticus peptid plazmaszintjei illetve a praeclampsia klinikai tünetei és a betegséget jellemző laboreltérések között?

11. Meghatározható-e vágópont (cut-off point) a B típusú natriureticus peptid plazmaszintjében a súlyos praeclampsias betegeknek?

III. Beteganyag és módszerek

1. A tanulmány résztvevői

A Semmelweis Egyetem I. Számú Szülészeti és Nőgyógyászati Klinikáján 235 egészséges terhest és 220 praeclampsias pácienszt vizsgáltunk. A vizsgálatainkba bevont terhesek 2006. június 30. és 2010. december 31. között szültek Klinikánkon. A következő csoportokat határoztam meg:

1. Praeclampsiasok, ezen belül korai és késői kezdetű praeclampsias terhesek.
2. Kontroll várandós nők.

A Klinikánk Várandósambulanciáján jelentkező egészséges várandósok között az önként jelentkező szinguláris terhesektől vettünk vért. Részletes anamnézis felvétel történt előzményben szereplő krónikus magas vérnyomás, praeclampsia, vesebetegség, illetve cukorbetegség irányában. Amennyiben a terhesség során magas vérnyomás jelentkezett a pácienszt kizártuk a kontrollcsoportból. A súlyos praeclampsias terhes nőknél a 20. hét után jelentkező legmagasabb vérnyomásérték meghaladta a 160/110 Hgmm értéket két egymástól eltérő időpontban mérve (4 óra-1 hét különbséggel). A vizelet fehérjetartalma 5000 mg/24 óra feletti volt. A vérmintákat a praeclampsia diagnózisának felállításakor, a gyógyszeres kezelés, illetve transzfúzió megkezdése előtt vettük. A praeclampsias terhesek egyéb kórképekben (pl. gestatiós diabetes, asthma bronchiale stb.) nem szenvedtek, illetve ezeknek megfelelő gyógyszeres kezelésben nem részesültek. Korai kezdetű praeclampsias páciensek esetében a kialakult súlyos praeclampsia tünetei a terhesség 20. és 34. hete között kezdődtek, míg a késői kezdetű praeclampsias terheseknél a kórkép a 34. terhességi hét betöltése után fejlődött ki.

Az intrauterin magzati növekedési retardáció (IUGR) megállapításánál a Központi Statisztikai Hivatal által készített születéskori testtömeg és testhossz standardok táblázatát használtuk. Méhen belüli magzati növekedési retardációval érintetteknek az adott terhességi hétre jellemző, nemre egyeztetett 10 percentilis alatti súllyal világra jött újszülötteket (IUGR10 percentilis) tekintettük. A súlyos magzati növekedési retardáció diagnózisát az adott terhességi hétre jellemző, nemre egyeztetett 3 percentilis alatti súllyal világra jött újszülötteknél (IUGR3 percentilis) állítottuk fel.

2. A natriureticus peptid prekursor B gén (TTTC)_n polimorfizmusának vizsgálata

A vizsgált személyektől etiléndiamin-tetraecetsavat (EDTA) tartalmazó kémcsőbe 3 milliliter perifériás vért vettünk. A praeclampsias pácienseknél a vérmintákat a praeclampsia diagnózisának felállításakor, a gyógyszeres kezelés megkezdése előtt vettük le, a kontrollcsoport tagjainál a vérvétel egy harmadik trimeszteri rutin laborvizsgálat kapcsán történt. A mintákat tíz percig 3000 fordulatszámmal centrifugáltam le és a felhasználásig -80 °C-on lefagyasztottam. A DNS minták izolálására High Pure PCR Template Isolation kitet (Roche, Mannheim, Németország) használtam a gyártó útmutatása szerint. A fehérvérsejtek genomális DNS-ét 0,2 ml mintából vontam ki.

Az izolálás során 1,5ml Eppendorf csőbe mértem 40µl Proteinase K enzimet 200µl Binding Puffert (6M guanidine-HCl, 10mM urea, 10mM Tris-HCl, 20% Triton X-100 (v/v), pH 4,4 (25°C)), majd az elegyhez hozzáadtam 200µl vérmintát. Összekeverés után 70 °C-on 10 percig inkubáltam. Ezután az elegyhez mértem 100µl isopropanolt. Az összekeverést követően szilika oszlopra mértem a mintát, majd egy percig 8000 fordulatszámmal centrifugáltam le. Az oszlop megköti a DNS molekulákat. A PCR-t gátló anyagokat a kit mosófolyadékaival távolítottam el, ezért az oszlopot 500µl Inhibitor Removal Pufferrel (5M guanidine-HCl, 20mM Tris-HCl, pH 6,6 (25 °C) mostam át (centrifugálás 1 perc, 8000 fordulatszám). Ezt követően 500µl Wash Pufferrel (20mM NaCl, 2mM Tris-HCl, pH 7,5 (25

°C) mostam át az oszlopot (centrifugálás 1 perc, 8000 fordulatszám). A mosási szakaszt még egyszer megismételtam, majd a centrifugálás végén teljes sebességgel még további 10 másodpercig centrifugáltam az oszlopot a maradék mosófolyadék eltávolítására. A tisztítás végeztével 200 µl 70 °C-os Elution Pufferrel (10mM Tris-HCl, pH 8,5 (25 °C) oldottam le az oszlopról a tiszta DNS-t. A tisztított mintát steril 1,5ml-es Eppendorf csőben tároltam a vizsgálatig -80 °C-on.

Az izolált DNS mintákból az e célból szintetizált forward (5'-6-FAM-AAG GAG GCA CTG GGA GAG AGG GGA ATT-3') és reverse (5'-AAT TAG CTG GGC ATG GTG GCA GGCG-3') oligonukleotid primerek segítségével, fluoreszcens PCR és DNS fragmens analízis módszerrel meghatároztam a TTTC szekvencia ismétlődő egységeinek a számát. A PCR csőbe 10 µl Qiagen Multiplex PCR mix (Qiagen, Hilden, Germany) és 0,3 -0,3 µM primerek, valamint 1 µl minta került összemérésre, 20 µl végtérfogatba. A polimeráz láncreakció futtatási paraméterei a következő voltak: A kezdeti 10 percig tartó 95 °C-on végzett denaturáció után a polimeráz láncreakciót 32 ciklusban során a következő PCR környezetben végeztük: 30 másodpercig 95 °C-on (denaturálás), 30 másodpercig 60 °C-on (primer kitapadás-anneláció) és újabb 30 másodpercig 72 °C-os hőmérsékleten (lánc hosszabbítás-extenzió). A végső extenzió 72 °C-on 10 percig zajlott. A PCR reakciót ABI 9700 PCR készülékkel végeztem (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA)

A célzott DNS szakasz sokszorozását követően, a PCR termék 4 µl-éhez 19 µl formamidot és 0,5 µl of GeneScan 500-ROX Size Standard festéket (PE Applied Biosystems, Foster City, California, USA) adtam. A keveréket 95 °C-os hőmérsékleten denaturáltuk 5 percig és újabb 5 percig 4 °C-on hűtöttem. A kapilláris elektroforézist POP7 gél alkalmazásával ABI 3130 Genetic Analyzer gépen végeztem (PE Applied Biosystems). A fluoreszcens festékkel jelölt DNS minta a kapillárisban lévő gélben vándorol, méret szerint elválasztódik, a kisebbek előbb haladnak el a detektor előtt, a nagyobbak később. Az eredményeket a Genemapper Analysis szoftver (PE Applied Biosystems) analizálta. A kapilláris elektroforézis rendszer lehetővé teszi, hogy 1 bázispár pontossággal meghatározzuk a keletkezett PCR termék méretét.

3. A B típusú natriureticus peptid plazmaszintjének meghatározása

A TTTC szekvenciák meghatározásával párhuzamosan a fenti csoportokból 50 egészséges terhes és a 220 súlyos praeclampsias pácienst vettünk vérből meghatározni a plazma BNP szintet. A praeclampsias pácienseknél a vérmintákat a praeclampsia diagnózisának felállításakor, a gyógyszeres kezelés megkezdése előtt - a DNS polimorfizmus vizsgálat mintáival egyidőben, de attól független kémcsőben - vettük. A levett mintákat EDTA tartalmú kémcsőbe gyűjtöttem majd tíz percig 3000 fordulatszámmal centrifugáltam le és -80 °C-on lefagyasztottam. A B típusú natriureticus peptid plazmaszintjének meghatározásához a vizsgálat előtt az EDTA tartalmú plazma mintákat először felolvasztottam 21 ± 3 °C-os vizes fürdőben 30 - 60 percen keresztül. A reagensbetétbe történő betöltés előtt a csőben lévő mintákat óvatosan körülbelül három másodpercen keresztül megforgattuk.

Ezután 250 µl plazmából immunfluoreszcens módszerrel (Triage BNP test, Biosite Diagnostics Incorporated, San Diego, California, USA) meghatároztam a B típusú natriureticus peptid plazmaszintjét. A Triage BNP teszt egy szendvics fluoreszcens immunoassay. A rendszer egy többfunkciós mérőeszközből - ez a Triage Meter, és egy egyszerhasználatos, eldobandó műanyag reagensbetétből áll. A módszer EDTA-antikoagulált vérplazma mintákban rekombináns egér antitestek felhasználásával egyszerre alkalmazza a standard immunoassay technikát a BNP célfehérje kvalitatív és kvantitatív kimutatására. A reagensbetét két különböző BNP specifikus monoklonális antitestet tartalmaz. Az egyik antitest a reagensbetét szilárd belső felszínén rögzített (capture zone), míg a másik antitest oldott állapotban fluoreszcens nanorészecskékhez konjugált (detection). A vérplazmát pipetta felhasználásával, a reagensbetét megadott mintafelvevő helyébe (port) cseppentjük. A

vérplazma a reagensbetét preformált diagnosztikus útvonalán, kapilláris elv alapján folyik végig és feloldja a fluoreszcens nanorészecskéket. A mintában található BNP hozzákötődik a nanopartikulumokhoz kötődő antitestekhez és multivalens komplexet hoznak létre. Ezek a komplexek az immobilizált antitestek által elfogásra kerülnek, az úgynevezett elfogási zónában (capture zone). A reagensbetétet a plazma betöltése után a mérőeszközbe (Triage Meter) helyeztem. A BNP plazmakoncentrációjának mennyiségi meghatározása 5 to 5000 pg/ml tartományban történik. Az eredmény a mérőeszköz monitorán körülbelül 15-20 perc múlva jelenik meg és kinyomtatásra kerül. A kalibrációhoz szükséges információkat egy BNP-re specifikus EPROM chip (az úgynevezett code chip module) közvetíti a mérőeszköznek.

A mérési tartományon kívül eső értékeket a legközelebbi hozzátartozó határértékként jeleníti meg a monitoron. Például bármely < 5 pg/ml érték 5 pg/ml-ként és bármely > 5000 pg/ml érték 5000 pg/ml értékként kerül feltüntetésre. A Triage Meter automata módon monitorizálja az immunoassay progresszióját és jelzi a BNP koncentrációját annak befejeztével. A gyári adatok alapján a teszt 8,8-11,6% intra-assay és 9,9-12,2% inter-assay pontossággal rendelkezik 71,3 és 4087,9 pg/ml értékek között.

4. Biokémiai markerek

A TTTC polimorfizmus és a BNP plazmaszintek meghatározásával párhuzamosan a fenti csoportokból 40 egészséges terhes és 20 korai kezdetű-, illetve 20 késői kezdetű súlyos praeclampsias pácienst véreben meghatároztam a vérkép elemeit (fehérvérsejt- és vérlemezkeszámot, illetve a hemoglobin és hematokrit értékeket), szérumszinteket (Na^+ , K^+ , Cl^-) valamint a vesék működését jellemző paramétereket (karbamid, kreatinin, húgysav és összfehérje szinteket). A praeclampsias pácienseknél a vérmintákat a praeclampsia diagnózisának felállításakor, a gyógyszeres kezelés megkezdése előtt - a DNS polimorfizmus vizsgálat és a BNP plazmaszint meghatározásának mintáival egyidőben, de attól független kémcsőben - vettük. A levett mintákat EDTA tartalmú kémcsőbe gyűjtöttem majd tíz percig 3000 fordulatszámmal centrifugáltam le és a felhasználásig -80°C -on lefagyasztottam. A praeclampsias betegek felvétele kapcsán 24 órán keresztül tartó vizeletgyűjtést végeztünk és a mintákból a vizeletben ürített fehérjemennyiségét határoztuk meg. A standard laboratóriumi paraméterek meghatározása a Semmelweis Egyetem Központi Laboratóriumában autoanalizátorok segítségével történt. A vérképet Advia 120 Hematology System (Advia Centaur BNP, Siemens Healthcare Diagnostics, TarryTown, NY 10591-5097, USA) készülékkel vizsgálták. A karbamid, húgysav, szérumszint és összfehérje, valamint a 24 órás vizeletfehérjeürítés mértékének meghatározására Beckman Coulter AU5800 System (Beckman Coulter, Inc. Diagnostics Division Headquarters 250 South Kraemer Boulevard Brea, CA 92821-6232, USA) készüléket használtak. A kreatinin mérés nem-enzimikus, kinetikus Jaffe módszerrel történt.

5. Statisztikai módszerek

A folyamatos változók az átlagérték \pm standard deviáció (SD), vagy a medián érték (interkvartilis tartomány, IQR) feltüntetésével jellemeztem szükség szerint. A statisztikai számítások elvégzésére a STATISTICA szoftver csomagot használtam (version 8; StatSoft, Inc., Tulsa, Oklahoma, USA). A normális eloszlás meghatározására a Shapiro-Wilks tesztet végeztem. Tekintettel arra, hogy a folyamatos változók nem a normális eloszlást mutatták ezért nem paraméteres (non-parametric) statisztikai módszereket alkalmaztam. A különböző folyamatos változók összefüggéseire és a betegcsoportok adatainak összehasonlítására Mann-Whitney U próbát, Fischer exact tesztet és Pearson Chi négyzet (χ^2) tesztet végeztem, ahol $p < 0,05$ értéket tekintettem szignifikánsnak. A kategorikus elemek összehasonlítására, így az allélek és genotípusok gyakoriságának vizsgálatára Pearson Chi négyzet (χ^2) tesztet végeztem.

A BNP plazmaszintek összehasonlítására Mann-Whitney U próbát, kettőnél több csoport összevetése esetén Kruskal-Wallis tesztet használtam. A lehetséges együtttható változók, zavaró tényezők adjusztálása céljából többváltozós logisztikus regressziót végeztem. A BNP plazma szintek és a betegek klinikai tüneteinek, illetve laboratóriumi paramétereinek összefüggését vizsgálva Spearman féle rangkorrelációs együttthatókat számoltam. Súlyos praeclampiás betegeknél a B típusú natriureticus peptid plazmaszintjének vágópont (cut-off point) meghatározására ROC (Receiver Operating Characteristic) görbe analízist végeztem.

IV. Eredmények

1. A natriureticus peptid prekursor B gén 5' régiójában található TTTC tandem polimorfizmus eloszlásának vizsgálata egészséges és súlyos praeclampsziás terhesek között

A kapilláris elektroforézis rendszer segítségével meghatároztuk az NPPB gén (TTTC)_n mikroszatellita polimorfizmusának allél eloszlását a kontroll és a praeclampsziás csoportokban. A tetranukleotid ismétlődések száma szerint összesen 12 féle allélt találtunk a 8 és 20 ismétlődés közti tartományban. A leggyakoribb allélek mindkét csoportban a 11 és a 16 ismétlődést mutatóak voltak mindkét vizsgálati csoportban. Az egészségesek között mind a 12 féle allél kimutatható volt, a praeclampsziások között csak 10 félélt találtunk. Ebben a csoportban a 8-os és 20-os ismétlődésű allél nem fordult elő.

Az allélek eloszlása szignifikánsan különbözik a vizsgált csoportokban ($p=0,0002$). A 11-es ismétlődésű allél előfordulása alacsonyabb az egészséges kontrollcsoportnál (47,87%) a praeclampsziásokéhoz képest (60,23%) ($p=0,0002$). Ezzel ellentétben a 10-es ismétlődésű allél frekvenciája az egészséges kontroll csoportban magasabb a praeclampsziásokhoz képest (4,26%, illetve 0,68%) ($p=0,0005$). Hasonló a 12-es ismétlődésű allél gyakorisága a kontroll csoportban a praeclampsziásokhoz képest (8,94%, illetve 4,55%) ($p=0,0118$). A 16-os ismétlődésű allél frekvenciája 24,26% volt az egészséges várandósok és 25% a súlyos praeclampsziás betegek között ($p>0,05$).

A várandósokat vizsgálva összesen 35 féle genotípust írtunk le. Súlyos praeclampsziás betegekben mindössze 20 féle, míg a kontrollcsoport várandósainál 32 féle genotípus fordult elő. A leggyakoribb genotípusok mindkét vizsgálati csoportban a 11 homozigóták és a 11:16 genotípusúak voltak. Az egészségesek között a harmadik leggyakoribb genotípus 16 homozigótaké, míg a súlyos praeclampsziások között a 11:12 genotípussal rendelkezőké volt.

A genotípusok eloszlása szignifikáns eltérést mutatott ($p=0,027$). A 10-es ismétlődést hordozó genotípusúak szignifikánsan kevesebben voltak a súlyos praeclampsziások között, a kontroll csoportéhoz képest ($p=0,032$). A demográfiai változók (terhesség előtti BMI, anyai életkor, primiparitás, dohányzás) adjusztálása után, a számított esélyhányados 0,19 (95% CI: 0,04-0,87) volt. Hasonlóképpen a 12-es ismétlődést hordozó genotípusúak szintén szignifikánsan kevesebben voltak a praeclampsziások között, az egészséges terhesekhez képest ($p=0,037$). Az adjusztált esélyhányados ebben az esetben 0,53 (95% CI: 0,29-0,96). A 11-es ismétlődést hordozó genotípusúak előfordulási gyakorisága a praeclampsziások között szignifikánsan magasabb volt az egészséges kontrollokhoz képest ($p<0,001$). Az adjusztált esélyhányados 2,91 (95% CI: 1,75-4,84). A súlyos praeclampsziás betegek közel 90%-a hordozta a 11-es ismétlődésű allélt (87,7%). A 11-es ismétlődést mutató homozigóták aránya a súlyos praeclampsziások között szignifikánsan nagyobb volt a normotóniás várandósokhoz képest ($p<0,001$).

A súlyos praeclampsziás betegek között a 11-es ismétlődést hordozó homozigóták adjusztált esélyhányadosa magasabb /OR: 3,01 (95% CI: 1,66-5,44)/ volt a 11-es ismétlődést hordozó heterozigótákhoz /OR: 2,84 (95% CI: 1,66-4,87)/ képest.

2. A B típusú natriureticus peptid plazmaszintjeinek meghatározása súlyos praeclampsziás és egészséges terhesek között

A BNP szintje a súlyos praeclampsziás betegekben magasabb volt a normotóniásokhoz képest. A hormon plazmakoncentrációjának medián értéke a súlyos praeclampsziások között 32,40 (13,30-65,90) pg/ml, míg az egészséges várandósok esetében 9,75 (5,6-16,7) pg/ml volt. Ez a különbség szignifikáns mértékűnek bizonyult ($p<0,0001$).

3. A natriureticus peptid prekursor B gén 5' régiójában található TTTC tandem polimorfizmus és a B típusú natriureticus peptid plazmaszintjei közötti összefüggések vizsgálata

A 11 ismétlődést mutató allélra homozigóta egészséges várandósok esetében magasabb BNP szintet találtunk az egyéb genotípussal rendelkező várandósokhoz viszonyítva. (13,9 (5-21,8) pg/ml, illetve 9,0 (5,6-15,9) pg/ml). Ez a különbség nem bizonyult szignifikánsnak ($p>0,05$). A súlyos praeclampsziás betegek esetében szintén magasabbak voltak a 11 ismétlődést mutató homozigóta genotípusúak plazma BNP szintjei az egyéb genotípussal rendelkező praeclampsziásokhoz képest (64,5 (28,75-93,15) pg/ml illetve 17,8 (8,1-36,9) pg/ml). Ez a különbség szignifikáns mértékűnek mutatkozott ($p<0,001$).

A 11-es ismétlődésű allélra homozigóta, illetve heterozigóta és az allélt nem hordozó egyéb genotípusúak BNP plazmaszintjeit Kruskal-Wallis teszttel összehasonlítva a súlyos praeclampsziás betegeknél szignifikáns eltérést találtunk ($p=0,03$).

4. A natriureticus peptid prekursor B gén 5' régiójában található TTTC tandem polimorfizmus eloszlásának vizsgálata korai és késői kezdetű súlyos praeclampsziások között

A 220 súlyos praeclampsziás terhes közül 127-nél kezdődtek a betegség tünetei a 34. terhességi hét betöltését megelőzően és 93-nál ezt követően. A két alcsoportban a súlyos praeclampsziások között talált mind a 8 féle allél előfordult. Az alléleloszlásokat összehasonlítva szignifikáns különbség nem mutatható ki ($p=0,21$). Az alléleloszlásokat a 235 egészséges várandóst magába foglaló kontrollcsoporthoz hasonlítva megállapítható, hogy a késői kezdetű kezdetű praeclampsziások alléleloszlása nem ($p=0,073$), azonban a korai kezdetű praeclampsziások alléleloszlása szignifikáns eltérést mutat az egészségesekéhez képest ($p=0,0064$). A leggyakoribb a 11-es ismétlődésű allél mindkét alcsoportban. A korai kezdetű praeclampsziásoknál az allél 63%-os, míg a késői kezdetűeknél 56,45% gyakoriságot mutat. A genotípusokat vizsgálva az alléleloszláshoz hasonló összefüggéseket találtunk. A korábban leírt 20 féle genotípus közül mind a két praeclampsziás csoportban 16-16 féle genotípust találtunk. Ezek közül 12 féle volt identikus. A két alcsoport genotípuseloszlásában szignifikáns különbség nem mutatkozott ($p=0,195$).

A genotípusokat vizsgálva az alléleloszláshoz hasonló összefüggéseket találtunk. A korábban leírt 20 féle genotípus közül mind a két praeclampsziás csoportban 16-16 féle genotípust találtunk. Ezek közül 12 féle volt identikus. A két alcsoport genotípuseloszlásában szignifikáns különbség nem mutatkozott ($p=0,195$). A késői kezdetű praeclampsziások genotípuseloszlása nem ($p=0,366$), azonban a korai kezdetű súlyos praeclampsziások genotípuseloszlása szignifikáns eltérést mutat az egészségesekéhez képest ($p=0,0137$).

A leggyakoribb genotípusok mindkét vizsgálati csoportban a 11 ismétlődést mutató homozigóták, illetve a 11:16 és a 11:12 genotípussal rendelkezőké voltak. A korai és a késői kezdetű praeclampsziások között a 11:16 (32,28%, illetve 36,56%) és a 11:12 (7,87%, illetve 7,52%) genotípus előfordulása hasonló volt. A 11 ismétlődést mutató homozigóták a korai kezdetű praeclampsziásoknál gyakoribbak voltak (36,22%, illetve 27,95%).

A súlyos praeclampsziás és az egészséges várandósokat összehasonlítva a 11 homozigóták esélyhányadosa a korai kezdetűeknél magasabb /OR: 1,694 (95% CI: 1.06-2,7)/ volt a késői kezdetű praeclampsziásokhoz /OR: 1,22 (95% CI: 0,71-2,08)/ képest.

5. A B típusú natriureticus peptid plazmaszintjeinek összehasonlítása a korai és késői kezdetű súlyos praeclampsziás terhesek körében

A 127 korai kezdetű és a 93 késői kezdetű súlyos praeclampsziás beteg BNP plazmakoncentrációi szignifikáns eltérést mutattak ($p<0,05$). A korai kezdetűeknél a hormon

szintjének medián értéke 40,55 (28,5-82,7) pg/ml, míg a késői kezdetű praeclampsziásoknál ez az érték 24,10 (13,30-65,90) pg/ml volt. A natriureticus peptid prekursor B gén 5' régiójában található TTTC tandem polimorfizmus és a B típusú natriureticus peptid plazmaszintjei közötti összefüggéseket vizsgálva, a korai kezdetű praeclampsziások körében a 11-es ismétlődést mutató homozigóta genotípusúak esetében magasabb BNP koncentrációkat találtunk az egyéb genotípussal rendelkezőkhöz képest /67,05 (33,7-102,1) pg/ml, illetve 26,2 (14,3-39,5) pg/ml/. Ez a különbség szignifikáns mértékű ($p<0,0001$). A késői kezdetű praeclampsziásokat vizsgálva hasonló összefüggés mutatkozott. A 11 homozigóták BNP koncentrációinak mediánértéke 55,8 (28,75-93,15) pg/ml, az egyéb genotípusúaknál ez az érték: 17,1 (7,1-35,2) pg/ml ($p<0,0001$).

6. A natriureticus peptid prekursor B gén (TTTC)_n nukleotid szekvencia polimorfizmus és az intrauterin magzati retardáció közötti kapcsolat vizsgálata súlyos praeclampsziás terhesek körében

A 220 súlyos praeclampsziás terhes újszülöttjei közül 155 bizonyult nemre és terhességi korra eutrófnak. A 65 további újszülött 10 percentilis alatti súllyal jött világra, így őket méhen belüli magzati növekedési retardációval érintetteknek (IUGR10 percentilis) tekintettük. Ezen újszülöttek közül 28-an 3 percentilis alatti súllyal születtek. Őket a súlyos magzati növekedési retardáció diagnózisa miatt egy külön alcsoportba soroltuk (IUGR 3 percentilis).

Az eutróf magzatokat világra hozó terhesek esetében a súlyos praeclampsziások között talált mind a 8 féle allél előfordult. Az intrauterin magzati retardáció által érintett terhesek között a 15-ös ismétlődésű allél nem volt megtalálható. A súlyos magzati retardáció szövödményével jelzett alcsoportban a 15-ös ismétlődésű allél mellett a 12-es ismétlődésű allél sem fordult elő. A leggyakoribb allélnek a 11-es ismétlődést találtuk mindhárom alcsoportban. Legmagasabb arányban az eutróf csoportban (62,26%), míg az IUGR 10 percentilis csoportban 55,39% fordult elő. A súlyos magzati retardációt jelentő, IUGR 3 percentilis alcsoportban a 11-es ismétlődésű allél gyakorisága 44,64%, mely alacsonyabb a normotóniás várandósokhoz képest (47,87%).

Az alléleloszlásokat összehasonlítva az eutróf és az IUGR 10 percentilis csoport tagjai között szignifikáns különbség nem mutatható ki ($p=0,0781$). Az eutróf és az IUGR 3 percentilis alcsoport között az alléleloszlás szignifikáns eltérését találtunk ($p=0,0052$).

Az egészséges kontrollcsoport alléleloszlásához hasonlítva a súlyos praeclampsziás terhesek közül az eutróf magzatokat szülők csoportjának alléleloszlása különbözött szignifikánsan ($p=0,0022$). Az IUGR 10 percentilis és IUGR 3 percentilis csoportok esetében nem találtunk ilyen különbséget.

Az eutróf magzatok szüleinek genotípuseloszlása szignifikánsan különbözött mind az IUGR 10 percentilis ($p=0,0239$), mind az IUGR 3 percentilis csoport ($p=0,0003$) szüleinek genotípuseloszlásához képest. A súlyos praeclampsziásoknál talált 20 féle genotípus közül az eutróf magzatok szüleinek csoportjában 16 féle genotípust találtunk. Az intrauterin magzati retardáció által érintett terhességekben 14 féle genotípus fordult elő. A két csoport között 12 féle genotípus volt identikus. A súlyos magzati retardáció diagnózisával létrehozott alcsoport mindössze 10 féle genotípust tartalmazott.

A leggyakoribb genotípusok minden csoportban a 11-es ismétlődésű homozigóták és a 11:16 ismétlődéssel rendelkezők voltak. A 11-es ismétlődésű homozigóták (33,54%, illetve 30,77%) és a 11:16 (33,54%, illetve 35,38%) genotípusok az eutróf és az IUGR 10 percentilis csoportban hasonló gyakoriságot mutattak. Az IUGR 3 percentilis alcsoportban a 11-es ismétlődésű homozigóták aránya 25% volt, mely a normotóniás várandósokkal egyezik meg. A 11:12 genotípus az eutróf magzatok szüleinél magasabb arányban volt megtalálható a méhen belül retardált magzatok szüleihez (IUGR 10 percentilis) képest (9,68%, illetve 3,08%). Az IUGR 3 percentilis alcsoportban ez a genotípus nem fordult elő.

Az eutróf magzatokat világra hozó súlyos praeclampsias betegek genotípuseloszlását az egészséges várandósok csoportjához hasonlítva a súlyos praeclampsiasok genotípuseloszlása szignifikáns eltérést mutat az egészségesekéhez képest ($p=0,035$). Az IUGR 10 percentilis és az IUGR 3 percentilis csoportokat a normotóniás várandósokhoz hasonlítva nem találtunk szignifikáns különbséget.

Az eutróf magzatokat szülő súlyos praeclampsias betegek között, a normotóniás várandósokhoz képest a 11-es ismétlődést hordozó homozigóták adjusztált esélyhányadosa magasabb /OR: 4,47 (95% CI: 2,26-8,86)/ volt a 11-es ismétlődést hordozó heterozigótákhoz /OR: 4,3 (95% CI: 2,27-8,14)/ képest. Az IUGR 10 percentilis és az IUGR 3 percentilis csoportokat a normotóniás várandósokhoz hasonlítva nem találtunk szignifikáns különbségeket.

7. A B típusú natriureticus peptid plazmaszintjeinek vizsgálata az intrauterin magzati retardáció függvényében

A 155 eutróf-, illetve a 65 méhen belüli retardáció által érintett magzatot szült súlyos praeclampsias terhes BNP plazmakoncentrációi szignifikáns eltérést nem mutattak ($p<0,71$). Az eutróf magzatok szüleinél a hormon szintjének medián értéke 34,4 (10,2-70,9) pg/ml, míg az IUGR 10 percentilis csoport tagjainál ez az érték 29,0 (14,1-40,1) pg/ml volt. Az IUGR 3 percentilis alcsoportba sorolt terhesek BNP koncentrációinak medián értéke 31,2 (17,3-43,5) pg/ml volt.

8. A B típusú natriureticus peptid plazmaszintjeinek és a praeclampsia klinikai tüneteinek illetve a betegséget jellemző laboreltérések közötti összefüggések vizsgálata

A praeclampsias csoportban szignifikáns inverz korrelációt találtunk a betegség kezdetének ideje és a plazma BNP szintek ($R= -0,56$, $p<0,001$) között. A kontroll csoportban nem mutatkozott összefüggés a vérvételkor terheségi kor és a plazma BNP szintek között.

A korai kezdetű praeclampsiasok között a hemoglobinszint szignifikánsan magasabb, míg a szérum nátrium szint alacsonyabb volt a késői kezdetű praeclampsias és a normotóniás terhesekhez viszonyítva. Az egészséges terhesekhez képest a hematokrit, a szérum kálium, karbamid, húgysav szintek magasabbak, az összfehérje szint azonban szignifikánsan alacsonyabb volt mind a korai kezdetű-, mind a késői kezdetű praeclampsias betegnél. Továbbá a korai kezdetű praeclampsias betegek 24 órás vizelet fehérjeürítésének mértéke szignifikánsan magasabb volt a késői kezdetű praeclampsias betegekhez viszonyítva.

A Spearman féle rangkorrelációs együttható kiszámításával, a demográfiai változók (terhesség előtti BMI, anyai életkor, primiparitás, dohányzás) adjusztálása után vizsgáltuk a BNP plazmaszintek és a praeclampsia klinikai tüneteinek illetve a betegséget jellemző laboreltérések közötti összefüggéseket. Az egészséges terhesek esetében a plazma BNP plazmaszintek az összfehérje szinttel és a vérlemezkeszámmal szignifikáns mértékben negatív ($R= -0,33$ és $-0,37$, mindkét esetben $p<0,05$), a szisztolés és diasztolés vérnyomásértékekkel pozitív ($R= 0,31$ és $0,32$, mindkettőnél $p<0,05$) korrelációt mutattak. A késői kezdetű praeclampsias betegeknél szintén a szisztolés és diasztolés vérnyomásértékek ($R= 0,64$ $p<0,05$ és $R= 0,83$, $p<0,001$), illetve a 24 órás fehérjeürítés korrelált pozitív módon szignifikánsan ($R= 0,48$, $p<0,05$) a plazma BNP szintekkel. A korai kezdetű praeclampsias betegeknél a szérum nátrium ($R= -0,6$, $p<0,05$) és az összfehérje szintek ($R= -0,58$, $p<0,05$) szignifikáns inverz összefüggést mutatnak a plazma BNP koncentrációval. A plazma BNP szintje pozitív korrelációt mutatott a korai kezdetű praeclampsiasok csoportjában a vér hematokrit ($R= 0,59$, $p<0,05$), szérum kálium ($R= 0,66$, $p<0,05$), karbamid ($R= 0,59$, $p<0,05$) értékekkel és a 24 órás vizelet fehérjeürítéssel ($R= 0,62$, $p<0,05$).

9. A B típusú natriureticus peptid plazmaszint vágópontjának (cut-off point) meghatározása súlyos praeclampsziás betegeknél

ROC (Receiver Operating Characteristic) görbe analízis segítségével meghatároztuk azt a plazma BNP cut-off értéket, mely a legjobban megközelítette a 100%-os szenzitivitást és a 100%-os specificitást. A 24,5 pg/ml plazma BNP koncentrációt találtuk mind a korai kezdetű-, mind a késői kezdetű praeclampsziás betegek és az egészséges terhesek elkülönítésére a legalkalmasabbnak.

Korai kezdetű praeclampsziások esetében a szenzitivitás: 95%, a specificitás: 97,5% volt, míg a görbe alatti terület (area under curve, AUC) 95% CI mellett: 0,98 (0,91-0,99) $p < 0,001$ (12. ábra). A késői kezdetű praeclampsziásoknál ugyanilyen cut-off érték mellett a szenzitivitás 70%, a specificitás: 97,5% volt; míg a görbe alatti érték (AUC) 95% CI mellett: 0,88 (0,77-0,95) $p < 0,001$ értéket adott. A 24,5 pg/ml alatti plazma BNP szint a praeclampszia diagnosztikájában 85.1% negatív prediktív értékkel bírt.

V. Következtetések

1. Kifejlesztettem a natriureticus peptid prekursor B gén 5' régiójában található TTTC tandem polimorfizmus meghatározására alkalmazható fluoreszcens PCR és DNS fragmens analízis módszert. A módszer alkalmazásával egyszerűen és érzékenyebben lehet kimutatni a rövid tandem ismétlődések számát.

2. Meghatároztam a natriureticus peptid prekursor B gén 5' régiójában található TTTC tandem polimorfizmust egészséges és súlyos praeclampsias terhesek között. A 455 vizsgált terhesnél összesen 12 féle allélt találtunk. Az allélek eloszlása szignifikánsan különbözik a vizsgált csoportokban. A 11-es ismétlődésű allél előfordulása a praeclampsiasoknál a 10-es és a 12-es ismétlődésű allél frekvenciája az egészséges kontroll csoportban gyakoribb. A várandósokat vizsgálva összesen 35 féle genotípust írtunk le. A súlyos praeclampsias betegekben mindössze 20 féle, a kontrollcsoport várandósainál 32 féle genotípus fordult elő. A 11-es ismétlődést mutató homozigóták aránya a súlyos praeclampsiasok között szignifikánsan magasabb volt a normotónias várandósokhoz képest. Súlyos praeclampsias betegek között a 11-es ismétlődést hordozó homozigóták adjusztált esélyhányadosa magasabb volt a 11-es ismétlődést hordozó heterozigótákhoz képest.

3. B típusú natriureticus peptid plazmaszintjének meghatározás céljából, egy szendvics fluoreszcens immunoassay módszert vezettünk be a klinikai gyakorlatba praeclampsiasoknál. A betegség mellett történő peptidszint meghatározás a praeclampsiasok szülészeti ellátásban használható eszköz.

4. Meghatároztam a B típusú natriureticus peptid plazma koncentrációját egészséges és súlyos praeclampsias terhesek között. A BNP plazmaszintje a súlyos praeclampsias betegekben magasabb volt a normotóniasokhoz képest.

5. Megvizsgáltam a natriureticus peptid prekursor B gén 5' régiójában található TTTC tandem polimorfizmus és a B típusú natriureticus peptid plazmaszintjei közötti összefüggést. A 11 ismétlődést mutató allélra homozigóta súlyos praeclampsias terhesek esetében szignifikánsan magasabb BNP szinteket találtam az egyéb genotípusú betegekhez képest.

6. Összehasonlítottam a natriureticus peptid prekursor B gén 5' régiójában található TTTC tandem polimorfizmus eloszlását korai és késői kezdetű súlyos praeclampsias terhesek körében. Az allél- és genotípuseloszlásokat összehasonlítva szignifikáns különbség nem volt a két csoport között. Az egészséges terhesekhez képest csak a korai kezdetű súlyos praeclampsiasok genotípuseloszlása mutatott szignifikáns eltérést a késői kezdetűeké nem.

7. Meghatároztam a B típusú natriureticus peptid plazmaszintjeit korai és késői kezdetű súlyos praeclampsias terhesek körében. A korai kezdetűeknél a hormon plazmaszintjének medián értéke magasabb volt a késői kezdetű praeclampsiasokhoz képest. A 11-es ismétlődést mutató homozigóta genotípusúak esetében magasabb BNP koncentrációkat találtunk az egyéb genotípussal rendelkezőkhöz képest mindkét vizsgálati csoportban.

8. Tanulmányoztam a natriureticus peptid prekursor B gén 5' régiójában található TTTC tandem polimorfizmust intrauterin magzati retardációval szövődött súlyos praeclampsias terhesek körében. Súlyos praeclampsias terhességekben az eutróf magzatok szüleinek genotípus eloszlása szignifikánsan különbözött mind a 10 percentilis, mind a 3 percentilist elérő méhen belül retardáció miatt érintett magzatok szüleinek genotípus eloszlásához képest. Az eutróf magzatokat világra hozó súlyos praeclampsias betegek

genotípus eloszlása az egészséges várandósokhoz hasonlítva is szignifikáns eltérést mutat. A 10 percentilis és a 3 percentilis magzati retardációt mutató praeclampsziások csoportjait a normotóniás várandósokhoz hasonlítva nem találtunk ilyen különbséget.

9. Megvizsgáltam a B típusú natriureticus peptid plazmaszintjeit intrauterin magzati retardációval szövődött súlyos praeclampsziás terhesek körében. A 155 eutróf-, illetve a 65 méhen belüli retardáció által érintett magzatot szült súlyos praeclampsziás terhes BNP plazmakoncentrációi között szignifikáns eltérés nem volt.

10. A korai kezdetű praeclampsziás betegek 24 órás vizelet fehérjeürítésének mértéke szignifikánsan magasabb volt a késői kezdetű praeclampsziás betegekhez viszonyítva. A késői kezdetű praeclampsziás betegeknél a szisztolés és diasztolés vérnyomásértékek, illetve a 24 órás fehérjeürítés korrelált pozitív módon a plazma BNP szintekkel. A korai kezdetű praeclampsziás betegeknél a szérum nátrium és az összfehérje szintek szignifikáns inverz összefüggést mutatnak a plazma BNP koncentrációval. A plazma BNP szintje pozitív korrelációt mutatott a korai kezdetű praeclampsziások csoportjában a vér hematokrit, szérum kálium, értékekkel és a 24 órás vizelet fehérjeürítéssel.

11. ROC (Receiver Operating Characteristic) görbe analízis segítségével meghatároztam a B típusú natriureticus peptid plazmaszintjében a 24,5 pg/ml koncentrációt vágópontként, mely a praeclampszia kizárásában 85.1% negatív prediktív értékkel bírt. Korai kezdetű praeclampsziások esetében esetében ez a vágópont 95%-os szenzitivitást és 97,5% specificitást mutatott, míg késői kezdetű praeclampsziásoknál ugyanilyen cut-off érték mellett a szenzitivitás 70%, a specificitás: 97,5% volt.

Saját publikációk jegyzéke

Az értekezés témájában megjelent közlemények

1. **Szabó G**, Molvarec A, Stenczer B, Rigó J.Jr, Nagy B. (2011) Natriuretic peptide precursor B gene (TTTC)(n) microsatellite polymorphism in pre-eclampsia. Clin Chim Acta, 412: 1371-5. (IF: 2,535)
2. **Szabó G**, Rigó J.Jr, Nagy B.(2011) A natriureticus peptidcsalád élettani jellemzői és klinikai szerepe. Orv Hetil, 152: 1025-34.
3. **Szabó G**, Molvarec A, Stenczer B, Rigó J Jr, Nagy B.(2012) A natriureticus peptid prekursor B-gén (TTTC)n polimorfizmusa súlyos praeeclampsziával szövődött terhességben. Magyar Nőorvosok Lapja, 75: 22-7.
4. **Szabó G**. (2012) Biology of the B-Type Natriuretic Peptide: Structure, Synthesis and Processing. Biochem Anal Biochem, 1:e129. doi.10.4172/2161-1009.1000e129
5. **Szabó G**, Molvarec A, Nagy B, Rigó J. (2013) Increased B-type natriuretic peptide levels in early-onset versus late-onset preeclampsia. Clin Chem Lab Med, doi: 10.1515/cclm-2013-0307 (IF: 3,009)

Az értekezés témájától független közlemények jegyzéke

1. Hupuczi P, Rigó B, Sziller I, **Szabó G**, Szigeti Z, Papp Z. (2006) Follow-up analysis of pregnancies complicated by HELLP syndrome. Fetal Diagn Ther, 21: 519-22. (IF: 0,761)
2. Hupuczi P, Sziller I, Hruby E, Rigó B, **Szabó G**, Papp Z. (2006) Anyai szövődmények előfordulása 107 HELLP-szindrómával szövődött terhesség kapcsán. Orv Hetil, 147: 1377-85.
3. Hupuczi P, Nagy B, **Szabó G**, Rigó B, Sziller I, Papp Z. (2006) A Leiden mutáció gyakorisága HELLP szindrómával szövődött terhességekben. Magyar Nőorv L, 69: 289-95.
4. Nagy B, Hupuczi P, **Szabó G**, Rigó B, Papp Z. (2007) A metiléntetrahidrofolát-reduktáz (MTHFR) C677T mutáció kimutatása kvantitatív valós idejű PCR módszer alkalmazásával HELLP szindrómás betegek mintáiban Magyar Nőorv L, 70: 171-5.
6. Sziller I, Babula O, Hupuczi P, Nagy B, Rigó B, **Szabó G**, Papp Z, Linhares IM, Witkin SS. (2007) Mannose-Binding Lectin codon 54 gene polymorphism protects against development of pre-eclampsia, HELLP syndrome an pre-eclampsia associated intrauterin growth restriction Mol Hum Reprod, 13: 281-5. (IF: 2,871)
7. Than NG, Abdul Rahman O, Magenheimer R, Nagy B, Fule T, Hargitai B, Sammar M, Hupuczi P, Tarca AL, **Szabó G**, Kovalszky I, Meiri H, Sziller I, Rigo J.Jr, Romero R, Papp Z. (2008) Placental protein 13 (galectin-13) has decreased placental expression but increased shedding and maternal serum concentrations in patients presenting with preterm pre-eclampsia and HELLP syndrome Virchows Arch, 453: 387-400. (IF: 2,082)
8. **Szabó G**, Nagy B. (2012) Letter to the editor. J Cardiol, 59: 97. (IF: 1,284)

9. Stenczer B, Molvarec A, **Szabó G**, Szarka A, Fügedi G, Szíjártó J, Rigó J Jr. (2012) Circulating levels of thrombospondin-1 are decreased in HELLP syndrome Thrombs Res, 129: 470-3. (IF: 2,372)

Összegzett impakt faktor: 14,914